b　定量試験

試験溶液を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入し、a　検量線の作成によりカプタホールの定量を行う。

c　確認試験

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフにより確認する。

d　測定条件

①　定量試験用

カラム：５％フェニルーメチルシリコン　内径0.25㎜、長さ30m、膜厚0.25μm

カラム温度：50℃で１分間保持し、その後毎分25℃で昇温する。125℃に到達後、毎分10℃で昇温し、300℃に到達後５分間保持する。

試験溶液注入口温度：230℃に保持する。

検出器：300℃で操作する。

ガス流量：キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。流速を至適条件に調整する。

注入量：１μl

保持時間の目安：18分

②　確認試験用

カラム：35％フェニルーメチルシリコン　内径0.25㎜、長さ30m、膜厚0.25μm

保持時間の目安：19分

他の条件は定量試験用と同じ。

第１のAの５の⑸中「カプタホール試験法」を「カプタホール試験法（農産物）」に改め、同⑸を同⑹とし、同④を同⑤とし、同③の次に次を加える。

⑷　イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法

イプロニダゾールにあってはイプロニダゾール及び１ーメチルー２ー(２'ーヒドロキシイソプロピル)ー５ーニトロイミダゾールを、ジメトリダゾールにあってはジメトリダゾール及び２ーヒドロキシメチルー１ーメチルー５ーニトロイミダゾールを、メトロニダゾールにあってはメトロニダゾール及び１ー(２ーヒドロキシエチル)ー２ーヒドロキシメチルー５ーニトロイミダゾールを、ロニダゾールにあってはロニダゾール及び２ーヒドロキシメチルー１ーメチルー５ーニトロイミダゾールを分析対象とする。

１．装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

２．試薬・試液

次に示すもの以外は、第２　添加物の部C　試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル　当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

アセトン　当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

ギ酸　当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム（500mg）　内径12～13㎜のポリエチレン製のカラム管に、強酸性陽イオン交換樹脂500mgを充塡したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

ｎーヘキサン　当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

水　蒸留水、精製水、純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、ｎーヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム　当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

メタノール　当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

３．標準品

イプロニダゾール標準品　本品はイプロニダゾール98％以上を含む。

１ーメチルー２ー(２'ーヒドロキシイソプロピル)ー５ーニトロイミダゾール標準品　本品は１ーメチルー２ー(２'ーヒドロキシイソプロピル)ー５ーニトロイミダゾール98％以上を含む。

ジメトリダゾール標準品　本品はジメトリダゾール98％以上を含む。

メトロニダゾール標準品　本品はメトロニダゾール98％以上を含む。

１ー(２ーヒドロキシエチル)ー２ーヒドロキシメチルー５ーニトロイミダゾール標準品　本品は１ー(２ーヒドロキシエチル)ー２ーヒドロキシメチルー５ーニトロイミダゾール98％以上を含む。

ロニダゾール標準品　本品はロニダゾール98％以上を含む。

２ーヒドロキシメチルー１ーメチルー５ーニトロイミダゾール標準品　本品は２ーヒドロキシメチルー１ーメチルー５ーニトロイミダゾール98％以上を含む。

４．試験溶液の調製

a　抽出法

試料10.0ｇ（はちみつの場合は試料10.0ｇに水10mlを加えて溶かしたもの）に酢酸１ml及びアセトン50mlを加えて細切均一化し、毎分3,000回転で５分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物（はちみつの場合は水５mlを加えて溶かしたもの）にアセトン30mlを加えて細切均一化し、上記と同様に遠心分離し上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、アセトンで正確に100mlとする。

この溶液から正確に10mlを採り、40℃以下で約２mlに濃縮する。これにｎーヘキサン飽和アセトニトリル10ml及びｎーヘキサン10mlを加えて振とうした後、毎分3,000回転で５分間遠心分離する。アセトニトリル層を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に２vol％ギ酸５mlを加えて溶かす。

b　精製法

強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム（500mg）にアセトニトリル５ml及び２vol％ギ酸５mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにa　抽出法で得られた溶液を注入した後、更に２vol％ギ酸５ml、メタノール５ml及び0.5％アンモニア水５mlを順次注入し、流出液は捨てる。この溶液にアセトニトリル及び水の混液（１：３）10mlを注入し、溶出液を採る。

この溶出液に、硫酸アンモニウム２ｇを加えて溶かした後、酢酸エチル10mlで２回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を0.1vol％ギ酸に溶かし、正確に１mlとしたものを試験溶液とする。

５．操作法

a　検量線の作成

各標準品の0.1vol％ギ酸の溶液を数点調製し、それぞれを液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法により検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、イプロニダゾール、１ーメチルー２ー(２'ーヒドロキシイソプロピル)ー５ーニトロイミダゾール、メトロニダゾール及び１ー(２ーヒドロキシエチル)ー２ーヒドロキシメチルー５ーニトロイミダゾールにあっては試料中0.0001mg／kgに相当する試験溶液中濃度は0.0001mg／１である。同様に、ジメトリダゾール、ロニダゾール及び２ーヒドロキシメチルー１ーメチルー５ーニトロイミダゾールにあっては試料中0.0002mg／kgに相当する試験溶液中濃度は0.0002mg／１である。